

LEPTOSPIRA: REVISIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE UNA ENFERMEDAD ZONÓTICA

LEPTOSPIRA: REVIEW OF THE CAUSAL AGENT OF A ZONOTIC DISEASE

*Luzlady Chavarría Joya¹, Daniela Lara Gutiérrez¹,
William Méndez Hurtado², Johanna Moscoso Gama³*

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica reemergente, tiene comportamiento endémico y es de gran importancia en la salud pública a nivel mundial. Su prevalencia es alta en países tropicales y subtropicales, pero presenta mayor incidencia en lugares donde es frecuente la agricultura, la manufactura de productos animales, la silvicultura, la ganadería, entre otros.

Esta patología tiene un porcentaje elevado de mortalidad y aunque generalmente es subclínica, puede producir síntomas que van desde un resfriado común hasta fiebre hemorrágica, es por esto que se confunde fácilmente con otras patologías evitando que sea tratada oportunamente.

Su forma crónica puede generar alteraciones sistémicas a nivel hepático, renal y pulmonar. El diagnóstico es muy complejo por las características morfológicas de la *Leptospira*, por lo cual su identificación se realiza mediante dos tipos de ensayos: serológicos y moleculares.

El objetivo de este artículo es realizar una revisión bibliográfica de esta patología, comprendiendo: morfología, clasificación genómica, patogenia, epidemiología, tratamiento y diagnóstico.

Palabras clave: Zoonosis, Subclínica, Ácidos nucleicos y serovares.

ABSTRACT

Leptospirosis is a re-emerging bacterial zoonotic disease, is endemic and is of great importance in public health worldwide, its prevalence is high in tropical and subtropical countries, but it presents greater incidence in places where it is common to agriculture, the manufacturing of animal products, forestry, livestock, among others.

This pathology has a high percentage of mortality and although it is usually subclinical, can produce symptoms ranging from a common cold to haemorrhagic fever, this is that you get confused easily with other pathologies avoiding that it is treated in a timely way.

Its chronic form can generate systemic alterations to hepatic, renal and pulmonary level. The diagnosis is very complex by the morphological characteristics of the *Leptospira*, by which your identification is performed using two types of trials: serological-based detection of antileptospira antibodies and molecular-based finding nucleic acids of different serovars.

The aim of this paper is to review the literature on this pathology, comprising: morphology, genome classification, pathogenesis, epidemiology, diagnosis and treatment.

Keywords: Zoonoses, Subclinical, Nucleic acids and serovars.

Recibido: Agosto 4 de 2015

Aceptado: Septiembre 17 de 2015

1. Estudiantes de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Semillero de Investigación ECZA, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá D.C., Colombia.
2. Médico veterinario, Especialista en Pequeñas Especies y Diagnóstico Clínico Veterinario, Docente del Semillero de Investigación ECZA, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá D.C., Colombia.
3. Bacterióloga y Laboratorista clínico, Magíster en Ciencias Biológicas, Directora del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Investigadora principal grupo ECZA, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá D.C., Colombia. jperpe@unicolmayor.edu.co

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis distribuida mundialmente y representa un importante problema de salud pública, es especialmente frecuente en zonas de climas tropicales y subtropicales, y además, se relaciona con condiciones ambientales y actividades agrícolas, ganaderas, mineras, trabajo en cañerías, etc., lo que genera un gran impacto en la economía y en la salud de la población (1). A pesar de ser una enfermedad causante de brotes en todo el mundo, es subnotificada por las entidades de salud pública debido a la confusión de sus manifestaciones clínicas con otras patologías, lo que contribuye a un desconocimiento generalizado sobre su verdadera prevalencia, y Colombia no es la excepción, pues no existen estadísticas verídicas y representativas que demuestren la situación en nuestro país, motivo por el cual no se hace posible implementar programas efectivos de prevención y control a la comunidad y animales en general (2). A raíz de esta problemática surge la necesidad de realizar una revisión actualizada en la literatura, que permita contribuir al conocimiento para generar cambios desde la salud pública.

El objetivo de este artículo es realizar una revisión bibliográfica de esta patología, comprendiendo: morfología, clasificación genómica, patogenia, epidemiología, tratamiento y diagnóstico.

LEPTOSPIROSIS ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Características generales

La leptospirosis es causada por bacterias del género *Leptospira*, el cual pertenece a la familia *Leptospiraceae*, del orden *Spirochateales*. Dentro de este género se reconocen comúnmente dos especies:

L. biflexa y *L. interrogans*, las cuales se comportan como saprofitas y patógenas respectivamente. Sin embargo actualmente gracias a herramientas moleculares y estudios filogenéticos se han logrado identificar más especies (3).

Las leptospiras tienen forma helicoidal, con una longitud aproximada de 6 a 20 μm , y apariencia de gancho en uno o en ambos extremos. Tienen un movimiento giratorio, importante dentro de su patogenicidad, gracias a filamentos axiales que se encuentran dentro de su cuerpo en el espacio periplásmico. Debido a su tamaño y a que son muy delgadas, no son visibles al microscopio de luz convencional, por ello requieren microscopía de campo oscuro para su observación. A pesar de que su estructura es de una bacteria gram negativa no se tiñe con facilidad con colorantes a base de anilinas, pero otras técnicas de coloración incluyen tinción con plata, giemsa, etc. Estas bacterias son aerobias obligadas, catalasa y oxidasa positivas y para obtener energía usan sales de amonio y ácidos grasos de cadena larga, estos últimos metabolizados por β -oxidación, y por esta razón son de crecimiento lento (hasta cuatro semanas) en los medios de cultivo artificiales enriquecidos y debe hacerse a una temperatura entre 28-30 °C (4-5).

Son muy sensibles a condiciones adversas como la desecación, cambios bruscos de pH y temperatura, y es debido a esto, que su aislamiento requiere condiciones especiales para garantizar su crecimiento satisfactoriamente (6).

Clasificación taxonómica

En un principio, hacia el año 1987 este género fue dividido en dos grandes especies: *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*, basándose en diferencias como las relacionadas en la Tabla 1 (4):

Tabla 1. Características diferenciales entre *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*

	<i>L. interrogans</i>	<i>L. biflexa</i>
Crecimiento a 13°C	NO	SÍ
Patogenicidad	SÍ	NO
Crecimiento en caldo soya-tripticasa	NO	SÍ
Túbulos citoplasmáticos	NO	SÍ

Sin embargo se presentaron inconvenientes al encontrarse cepas que no cumplían con estas condiciones, pero gracias a los estudios moleculares de su ADN se logró hacer una reclasificación encontrándose dos especies no patógenas: *L. biflexa*, *L. wolbachii* y 11 especies patógenas: *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. parva*, *L. alexanderi*, *L. fainei*, *L. meyerii* y *L. weilii*. Cabe aclarar que aún siguen haciéndose estudios en nuevas especies encontradas para determinar su clasificación y su importancia nivel de patología (7-8).

Además de las especies mencionadas, la unidad básica de clasificación con fines epidemiológicos, de diagnóstico e investigación (no taxonómico), es el serovar, basado en las diferencias antigénicas que existen entre estas, generalmente a nivel de su envoltura, y hoy en día se reconocen más de 200 serovares para *L. interrogans* y más de 60 para *L. biflexa*. A su vez con base en sus propiedades antigénicas los serovares pueden ser agrupados en serogrupos (9).

La distinción de los serovares se da gracias a diferencias que existen entre las cadenas laterales de los carbohidratos presentes en los lipopolisacáridos de la membrana externa y que se evidencian por las reacciones de aglutinación con sueros de conejo. Aunque dicha membrana es compleja se han identificado proteínas cruciales tanto para su

clasificación como para estudiar su patogenia y posible creación de vacunas a partir de las mismas (8, 10).

Es importante tener en cuenta que la clasificación genética y serológica pueden variar debido a que hay cepas pertenecientes a un mismo serovar que pueden pertenecer a otras especies de leptospira, lo que genera por ejemplo reacciones cruzadas en las pruebas a base de suero (11).

CLASIFICACIÓN MOLECULAR

Debido a la aparición de nuevas herramientas moleculares y genéticas, se ha logrado realizar una clasificación que se basa en estudios del ADN y de la región 16S del ARN ribosomal de la leptospira, y que difiere de la clasificación serológica. Sin embargo en la reunión del Subcomité para la taxonomía del género *Leptospira* realizado en Praga en el año 1994 se recomendó seguir usando el serovar como método de clasificación (12-13).

El Comité Internacional en Sistemática de Procariotas en el 2008, agrupó las leptospiras en tres subgrupos así (14):

Tabla 2. Clasificación de los subgrupos de *Leptospira*

Primer grupo Genoespecies saprofitas	Segundo grupo Genoespecies patógenas	Tercer grupo Comportamiento intermedio
<i>Leptospira biflexa</i> , <i>Leptospira wolbachii</i> , <i>Leptospira kmetyi</i> , <i>Leptospira vanthieli</i> , <i>Leptospira terprae</i> <i>Leptospira yanagawae</i>	<i>Leptospira interrogans</i> , <i>Leptospira kirschneri</i> , <i>Leptospira borgpetersenii</i> , <i>Leptospira santarosai</i> , <i>Leptospira noguchii</i> , <i>Leptospira weilii</i> , <i>Leptospira alexanderi</i> <i>Leptospira alstoni</i>	<i>Leptospira inadai</i> , <i>Leptospira broomii</i> , <i>Leptospira fainei</i> , <i>Leptospira wolffii</i> <i>Leptospira licerasiae</i>

En el caso del tercer grupo los estudios no han comprobado su patogenicidad.

TRANSMISIÓN

La leptospira vive dentro de diferentes especies que sirven de reservorio y ayudan a propagar la infección, estos animales por lo general manifiestan pocos o nulos signos clínicos. Los roedores son los mayores reservorios de estas bacterias, incluso de varios serovares al tiempo y las eliminan constantemente por la orina (leptospiuria). La transmisión de la leptospirosis se da por contacto directo con fluidos contaminados (orina, sangre, descargas postparto, abortos, etc.), e incluso a través de agua o alimentos contaminados (15). Las formas más comunes de transmisión por contacto directo son la vía conjuntival, la inhalatoria y por abrasiones en la piel (3).

Cabe mencionar que son capaces de vivir largos periodos de tiempo en aguas estancadas, dulces, lagunas, pozos, barro, especialmente si la temperatura es de 25 a 30 °C, lo que se traduce en fuentes de infección peligrosas y más aún para personas que viven en condiciones precarias con poco saneamiento básico.

Además del hombre, la leptospirosis ataca a una amplia variedad de especies como bovinos, equinos, porcinos, ovinos, caninos, felinos, animales silvestres, etc., y es por esta razón que la infección en el ser humano tiene una amplia relación con personas que realizan actividades como: medicina veterinaria, ganadería, minería, trabajo en cañerías, mataderos, granjas; militares, personas que practican deportes acuáticos, etc. (16).

La transmisión entre humanos es muy rara debido

a que el pH bajo de la orina reduce la viabilidad de la leptospira, pero no se descarta la posibilidad de transmisión en personas con altas descargas de estas bacterias (1).

PATOGENIA

Los mecanismos de patogenicidad de las leptospiras y la manera como establecen la infección en el hospedero aún son objeto de estudio debido a que se desconocen algunos puntos críticos en este proceso. Los modelos animales y herramientas genéticas siguen siendo de suma importancia para poder entender dichos mecanismos (17).

Las leptospiras ingresan al hospedero a través de abrasiones en piel y/o mucosas o por la ingestión de alimentos o agua contaminada. Luego de su entrada, rápidamente se establece una infección sistémica en donde la interacción con las células del hospedero y la expresión de moléculas por parte de esta bacteria, que reconocen la matriz celular, son fundamentales para lograr la adhesión y posterior colonización del microorganismo. Una vez ocurre este proceso es posible aislarlo en sangre e incluso en el líquido cefalorraquídeo (17-19).

La proliferación del microorganismo ocurre además a nivel de órganos parenquimatosos como hígado, riñones, bazo, ojos y rara vez meninges. Algunos factores de patogenicidad como enzimas (hemolisinas, colagenasas, hialuronidasas), peptidoglucano, LPS, proteínas de superficie (LigA, LigB, LipL32, Loa22), entre otras, logran la invasión y el establecimiento de la bacteria en estos órganos, lo que da cabida al desarrollo de diferentes tipos de daños. Se sabe además que las leptospiras son organismos intracelulares facultativos, debido a que se han encontrado dentro de macrófagos, y otras células, sin

embargo no se conoce el mecanismo por el cual ingresan a la célula, pero se sugiere que usan este mecanismo para diseminarse y evadir la respuesta inmune en general (18, 20).

Las leptospiras patógenas además de escapar inicialmente de la fagocitosis, y a la muerte por el sistema de complemento, usan su movimiento giratorio para penetrar desde su lugar inicial de inoculación a órganos distantes y causar diferentes lesiones (21).

Generalmente lo que ocurre durante la infección son daños en el endotelio de vasos y capilares (vasculitis infecciosa), lo que produce extravasación de la sangre, anoxia e isquemia local, y generación de radicales libres de oxígeno, traduciéndose de esta manera en daños graves que conllevan a las diferentes manifestaciones clínicas como nefritis, daño tubular en riñones, daño hepatocelular, hemorragia pulmonar, conjuntivitis, meningitis, etc. Dependiendo del lugar donde se aloje la bacteria (22-24) los mecanismos por los cuales se produce el daño no son del todo conocidos, pero estudios demuestran la participación de sustancias como hemolisinas, esfingomielasas, fosfolipasas y fibrolisinas, que causan efectos citopáticos en cultivos celulares compatibles con lo observado en las lesiones de los órganos afectados (25).

Los órganos blancos de la leptospira generalmente son el riñón, el hígado y el pulmón, en este último el daño capilar del tejido provoca hemorragias alveolares y fallo respiratorio agudo lo que causa la muerte en la mayoría de pacientes graves, se sugiere además que la deposición de inmunoglobulinas y complemento contribuyen a la hemorragia pulmonar. En el hígado se produce un incremento de triglicéridos, LDL colesterol, y una reducción del

HDL colesterol debido a la inhibición de la Na-K-ATPasa por parte del LPS de la bacteria, sumado a esto, el aumento de estos ácidos grasos y la fuerte expresión de la proteína de membrana externa LipL32 de la leptospira sirven como mediadores de la inflamación local y sistémica, deteriorando aún más la función del hígado (26-28). Durante la colonización en el riñón en casos de leptospirosis agudas, se producen enzimas como la hemolisina, que contribuye a hemorragias localizadas, isquemia y por ende causa una necrosis tubular. El daño capilar también promueve al edema intersticial y el infiltrado de linfocitos (29). Además de las lesiones anteriormente mencionadas, la hipovolemia, hipotensión, deshidratación, depósito de complejos inmunes e isquemia tisular conllevan a la pérdida de electrolitos, incapacidad de concentrar la orina, y otros efectos que en la medida de no recibir tratamiento pueden llevar a la muerte (30-31).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

En la leptospirosis la severidad del cuadro clínico depende de varios factores como: el estado y respuesta inmune del hospedero, el serovar y su dosis, la edad, las condiciones geográficas, el órgano afectado, entre otras, pues puede variar desde una infección subclínica hasta una enfermedad que causa la muerte por falla multiorgánica (32). El periodo de incubación es de 2 a 26 días con un promedio de 10 días (33).

La clínica de la enfermedad presenta dos fases: una fase leptospirémica y una fase inmune, siendo la primera la más común (34).

La etapa leptospirémica se caracteriza por presentarse como un síndrome febril que oscila entre 4 a 7 días de duración, acompañado de mialgias, de-

bilidad, malestar general, y algunas veces diarreas y vómito, es confundida frecuentemente con una gripe y es generalmente autolimitada, por lo que no es frecuente el tratamiento al no ser consultada ni diagnosticada médicamente. En esta fase de la enfermedad se puede hallar el microorganismo en sangre, LCR y otros líquidos (35).

La etapa inmune transcurre con la aparición de altas cantidades de leptospiras en la orina, anticuerpos y la baja o nula concentración del agente en sangre y LCR. Una vez se llega a este punto la enfermedad puede tomar alguna de las siguientes formas clínicas (36):

Forma anictérica: generalmente es benigna, y representa el 90 % de los casos. En esta se desarrolla fiebre de inicio brusco de 39-40 °C, escalofríos, mialgias generalizadas o localizadas en pantorrillas, muslos, pelvis, abdomen, entre otros lugares, hay malestar general, cefalea intensa, tos, náuseas, vómito, diarrea y es común encontrar inyección conjuntival y adenopatías. En algunas ocasiones se desarrolla síndrome meníngeo. Esta forma de la enfermedad se prolonga de 7 a 10 días. En el inicio de esta etapa se suele confundir con otras patologías como influenza, malaria, dengue, virus de Epstein Barr, entre otras (37-38).

Forma ictérica o enfermedad de Weil: se trata de la forma más grave de esta afección, presentándose una agudización de los síntomas anteriores (fiebre de inicio brusco, mialgias, diarrea, etc.). Sumado a ictericia cutáneo-mucosa causada por el daño hepato-celular grave, petequias en la piel y trastornos de la coagulación por las lesiones capilares, insuficiencia renal por necrosis tubular aguda, afectación pulmonar que cursa con hemorragias, tos hemop-

toica, grados variables de insuficiencia respiratoria, se presenta desequilibrio electrolítico. Esta etapa puede durar desde unas semanas hasta varios meses y puede evolucionar a formar crónicas y finalmente la muerte si no se recibe tratamiento oportuno y adecuado. Los pacientes que evolucionan a esta fase, tienen una alta tasa de mortalidad por falla multiorgánica (39-41).

EPIDEMIOLOGÍA A NIVEL MUNDIAL

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica ampliamente distribuida, clasificada como endemia en el trópico y como una enfermedad emergente y reemergente por la OMS (42) y el CDC (43). A pesar de que su frecuencia es alta, no existen estudios epidemiológicos que nos den cifras exactas de su distribución, esto se debe en gran parte a la falta de un diagnóstico acertado y al aumento de los viajes transcontinentales, en los cuales se puede dar el transporte de diversos patógenos sin tener estadísticas.

Se han obtenido reportes en África, Alemania, América Latina y el Caribe, Austria, Bulgaria, Canadá, China, Croacia, España, Estados Unidos, Filipinas, Finlandia, Francia, Grecia, Hawai, Hungría, Indonesia, Italia, Israel, Japón, Malasia, México, Noruega, Nueva Zelanda, Países Bajos, Polonia, Portugal, Suecia, Tailandia, entre otros (44), es por esto que se habla de una patología a nivel mundial.

Anualmente se reportan en promedio 873.000 casos y 48.000 muertes por leptospirosis (45). Las regiones con mayor incidencia son Asia-Pacífico y América Latina y el Caribe (46) y las poblaciones más susceptibles son aquellas que no tienen acceso a un sistema de alcantarillado (47).

Al ser un problema de salud pública, se requiere prevención y control de la patología, esto demanda un trabajo en conjunto entre los entes reguladores, los médicos tanto veterinarios como humanos y los laboratorios de diagnóstico (48).

EPIDEMIOLOGÍA EN CENTROAMÉRICA, AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE

Por ser caracterizada como una endemia en lugares del trópico, la Leptospirosis es un tema frecuente en estos lugares, que en la última década presentaron una elevación en los casos reportados, iniciando en Nicaragua y Brasil. Por esta razón Cuba realizó un estudio de prevalencia de serovares, lo cual arrojó como resultado que el transporte inadecuado de animales produjo el incremento de los serovares *australis*, *canícola* e *icterohaemorrhagiae*, en algunas regiones de este país (49).

En la mayoría de los países no se realiza reporte obligatorio de esta patología, sin embargo sí es obligatorio en Argentina (50), Colombia (51), Chile (52), Costa Rica (53), El Salvador (54), Honduras (55) y República Dominicana (56).

Los porcentajes de incidencia son liderados por Guayanas con el 60 % (57), seguido por Jamaica con el 31,9 % (57), Cuba con el 27,6 % (58) y Argentina con el 22,4 % (59).

Un estudio realizado en Buenos Aires, afirma que aunque frecuentemente se asocia la presencia de *Leptospira* con lugares de lluvias abundantes o inundaciones, también se debe analizar la diseminación en temporadas de verano y sequías (60).

EPIDEMIOLOGÍA EN COLOMBIA

El primer artículo de leptospirosis en Colombia fue

publicado en el año 1957, desde entonces se ha visto un aumento exponencial de publicaciones sobre el tema, aunque sigue siendo baja, ya que en el año 2011 se publicaron siete artículos. El primer brote que se reportó fue en 1995, en el Atlántico y el segundo brote registrado fue en el 2006 en Risaralda (61).

La incidencia en porcentajes expresa una alta frecuencia en Antioquia con 85,7 %, seguido por Magdalena con 27,7 %, Quindío con 24,3 %, Boyacá con 21,7 % y Valle del Cauca con 20,6 %. Esta distribución puede ser debido a diversas causas entre las cuales resaltan las condiciones medioambientales, la libre convivencia con animales, la falta de acueducto y la fuerte presencia de ganadería en estas zonas (62).

En lo corrido del año 2015, para la semana epidemiológica número 21, se han reportado 980 casos, comparados con la misma semana del año anterior (948) se observa un aumento del 3,27 %. Se notificaron 37 muertes, algunas confirmadas y otras probables, la mayoría reportadas en Antioquia (63).

Los casos que se han reportado hasta la semana 21 del 2015, provienen principalmente (56,02 %) de Antioquia, Valle del Cauca, y Tolima, seguidos por Amazonas, Antioquia, Arauca, Barranquilla, Bogotá, Bolívar, Caldas, Cartagena, Chocó, Córdoba, Cundinamarca, Guaviare, Huila, Magdalena, Meta, Nariño, Putumayo, Quindío, Risaralda, Santander, Santa Marta, Sucre y Vichada con el 21,15 % de los casos reportados (63).

La incidencia de las especies y serovares dependen de la zona, es por esto que aquí se presenta la frecuencia según las zonas con mayor reporte de *Leptospira*.

Frecuencia de especies en Antioquia (64):

- *L. interrogans*: serovares: *Grippotyphosa* 67,34%, *Copenhageni* 63,2 %, *Pomona* 42,85 %, *Icterohaemorrhagiae* 40,81 %, *Hardjo* 30,61 %, *Pyrogenes* 20,40 %, *Australis* 10,20 %, *Wolffi* 8,16 % y *Canicola* 6 %.
- *L. borgpetersenii*: serovares: *Castellonis* 32,65%, *Bratislava* 26,53 % y *Tarassovi* 2,04 %.
- *L. kirscheneri*: serovar: *Cynopteri* 6,12 %.
- *L. biflexa*: serovar: *Patoc* 6,12 %.

Frecuencia de especies en el Valle del Cauca (65):

- *L. interrogans*: serovares: *Icterohaemorrhagiae*, *Batavie* y *Canicola*.
- *L. kirscheneri*: serovar: *Cynopteri*.
- *L. santarosai*: serovar: *Mini* y *Shermani*.

Frecuencia de especies en el Tolima (66):

- *L. interrogans*: serovares: *Pomona* 43,1 %, *Grippotyphosa* 17,6 %, *Hardjo* 7,8 % e *Icterohaemorrhagiae* 7,8 %.
- *L. borgpetersenii*: serovar: *Bratislava* 7,8 %.

Frecuencia de especies en el Atlántico (67):

- *L. interrogans*: serovar: *Pomona*.

Frecuencia de especies en el Meta (68):

- *L. borgpetersenii*: serovar: *Bratislava* 24 %.
- *L. interrogans*: serovares: *Australis* 8 %, *Copenhageni* 6 %, *Canicola* 3 %, *Autumnalis* 1 % y *Hardjo* 1 %.

Frecuencia de especies en Córdoba (69):

- *L. interrogans*: serovares: *Grippotyphosa* 37,14%, *Icterohaemorrhagiae* 34,29%, *Pomona* 25,71 %, *Batavie* 21,43 %, *Hardjo* 20 %, *Canicola* 10 %, *Copenhageni* 8,57 %, *Autumnalis* 5,71 %, *Australis* 1,43 %, *Batavie* 21,43 %, y *Zanoni* 1,43 %.
- *L. borgpetersenii*: serovar: *Tarassovi* 1,43 %.
- *L. santarosai*: serovar: *Mini* 11,43 %.

TRATAMIENTO

En casos en los que se confirma la leptospirosis, el primer paso es compensar el desequilibrio electro-lítico y luego realizar corrección del ácido-base, a esto se le conoce como terapia de soporte. El segundo paso es aplicar antibioticoterapia, la cual se debe realizar en periodos tempranos de la enfermedad para evitar que los tejidos se lesionen (70).

Dentro de la terapia antibiótica utilizada para *Leptospira*, los medicamentos más frecuentes son: penicilina, doxiciclina, la combinación de tetraciclina y eritromicina, ampicilina y la unión de amoxicilina y estreptomycin. De estos, la penicilina y la doxiciclina son usados habitualmente en la práctica clínica. Estudios previos han demostrado que el uso de la penicilina en dosis de 1,5 millones cada 6 horas por 7 días disminuye el daño renal y reduce el periodo sintomático (71).

Los pacientes que cursan una etapa grave de la enfermedad pueden llegar a requerir diálisis (peritoneal y hemodiálisis), exanguineotransfusión, además de soportes respiratorios y cardiovasculares (71).

Es importante tener en cuenta que el tratamiento depende de factores determinantes como la edad, la gravedad del paciente, los antibióticos utilizados, entre otros (72). Por consiguiente se debe conocer la historia clínica del paciente para así suministrar un tratamiento eficaz.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Debido a la similitud de los signos y síntomas de la leptospirosis, que genera diagnósticos errados por parte de los clínicos, se hace necesario reali-

zar pruebas que confirmen los casos sospechosos. Sin embargo existen pruebas no confirmatorias que nos pueden orientar hacia este diagnóstico.

Primero debemos tomar la muestra, podemos encontrar el microorganismo en sangre, orina, LCR y fluidos dializados, luego realizamos el envío de la muestra de manera segura. Un paciente con esta infección puede presentar leucocitos normales o elevados (en el dengue generalmente se presenta leucopenia), también podemos observar una sedimentación globular elevada (73).

Por otra parte en las pruebas químicas se puede visualizar elevación ligera de fosfatasa alcalina y transaminasas, sin presencia de ictericia (fase anictérica). En un examen de orina podemos encontrar hematuria, proteinuria, piuria. Por otro lado un examen de LCR inicialmente puede revelar polimorfos, sumado a niveles anormales de glucosa y proteínas (74).

Las principales herramientas diagnósticas son:

1. Identificación del agente

En el caso en el que se desee realizar el aislamiento de la bacteria, es importante tener en cuenta el tiempo de patogenia del paciente, se deben tomar tres muestras. En la primera semana de la enfermedad, se toman dos muestras (sangre o LCR), y en la segunda se puede tomar una muestra de orina (allí puede permanecer hasta 11 meses después de iniciada la enfermedad) (75).

Las muestras se pueden inocular en medio de cultivos semisólidos, el más utilizado es el medio Fletcher enriquecido con suero de conejo (75). Sin embargo algunos estudios recientes mencionan los medios EMJH (Ellinghausen y Mecullough, mo-

dificado por Johnson y Harries) y el medio Tween 80-albúmina, este último es considerado el mejor ya que en este medio la bacteria presenta una elevada tasa metabólica, debido a una óptima asimilación del nutriente (76).

Debido a que el resultado del cultivo tarda entre 5-6 semanas, no es un método diagnóstico muy práctico, lo cual no permite realizar un diagnóstico temprano. Se ha descubierto un método radiométrico que utiliza el sistema BATEC-460, con este sistema se puede identificar la leptospirosis en sangre entre el 2-5 día de la enfermedad (77).

2. Detección indirecta

Las pruebas indirectas permiten detectar antígenos o anticuerpos antileptospira (generalmente IgM e IgG), los anticuerpos aparecen entre el 6-12 día de la enfermedad y el título máximo se obtiene entre la tercera y cuarta semana de la patología (77).

Para la identificación de antígenos es importante tener en cuenta el ensayo que se va a utilizar, esto se debe a que la inmunofluorescencia tiene una sensibilidad baja, que solo detecta el microorganismo cuando la concentración de leptospiras está entre 100-200/mL (78). El radioinmunoensayo (RIA) y la ELISA detectan la *Leptospira* a una concentración de 104-105/mL (79).

La identificación por ELISA ha demostrado ser más sensible que el MAT en fases tempranas de la enfermedad (80), y también se ha evidenciado que es más efectivo que otros métodos serológicos utilizados, por lo cual se recomienda para un diagnóstico oportuno (81).

3. MAT

El Test de Aglutinación Microscópica (MAT) es con-

siderado el Gold estándar para el diagnóstico de leptospirosis, ya que la Organización Mundial de la Salud (OMS), así lo ha dispuesto. Sin embargo se debe tener presente que cada laboratorio necesita cepas de los diferentes serovares de *Leptospira* spp., su elección se realiza por los estudios epidemiológicos que sean representativos (82).

Este ensayo se basa en detectar anticuerpos aglutinantes en suero, para ello se utilizan antígenos activos que se mezclarán con la muestra del paciente de manera *in vitro*. Es por esta razón que se deben mantener “cultivos base de antígenos” en agar sangre y el caldo tioglicolato, estos pueden ser almacenados en nitrógeno líquido o a -70°C (9).

Como los microorganismos consumen los nutrientes, se deben hacer pases y al realizar este procedimiento se va perdiendo antigenicidad, por lo cual se debe hacer revisión de la pureza del cultivo regularmente (9).

Luego de haber realizado la incubación del suero y el antígeno, se realizará el análisis bajo microscopía de campo oscuro, en el cual se observará la aglutinación y final determinación del título. Para esta prueba es importante tener en cuenta que los anticuerpos IgM anti *Leptospira* pueden ser detectables a partir de la primera semana de la infección (83).

Sin duda alguna la parte más difícil del MAT es la interpretación debido a la reacción cruzada, es por esto que se requiere experiencia para realizar este procedimiento. Al momento de observar en la microscopía de campo oscuro, se le asignarán cruces a la aglutinación que se observe y es importante tener un control positivo y negativo. Es posible que existan anticuerpos de infecciones pasadas, por lo cual se debe realizar una toma de muestras seria-

das, por lo general se espera un aumento de cuatro veces el título en el suero cuando está presente la infección.

Para la determinación de los títulos, se debe tener presente la exposición de la población y la prevalencia del serovar, el CDC determinó que un título de 1/200 arroja positividad pero solo en zonas infrecuentes, en zonas endémicas se estableció un título de 1/800 y el título 1/100 solo expresa evidencia de exposición (84).

Un estudio realizado en la UNAM, en el cual se realizó la comparación entre tres ensayos diagnósticos poco utilizados (videograbación en campo oscuro, impregnación argéntica e inmunohistoquímica) y el MAT, arrojó como conclusión que este último ensayo, no es el método más adecuado para el diagnóstico de leptospirosis, ya que en ocasiones los títulos del paciente pueden estar por debajo de las normas internacionales, sin embargo aún se considera el Gold estándar (85).

4. Inoculación en animales

Generalmente se realiza en cobayas, pero es poco fiable y no se usa habitualmente en los laboratorios (19).

5. Ensayos moleculares

La PCR es el método molecular más utilizado, sin embargo las estandarizaciones que existen actualmente, utilizan regiones altamente conservadas entre los serovares y pueden generar reacciones cruzadas, esto no es significativo para dar un tratamiento al paciente, pero sí es relevante para estudios epidemiológicos. Como esta identificación se hace a partir del genoma, se hace necesario realizar estudios de secuenciación genómica que permitan realizar las estandarizaciones.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Debido a su ubicación geográfica, Colombia es un país endémico para una gran variedad de patologías, las cuales suelen presentar síntomas similares, por lo tanto se hace necesario realizar un diagnóstico diferencial que le permita al clínico proporcionar el tratamiento adecuado.

Se deben evaluar los casos de hepatitis viral, dengue, influenza, malaria, fiebre amarilla, meningitis aséptica, síndromes virales, infecciones respiratorias, sarampión, rubeola, pielonefritis, brucelosis icterica, endocarditis, colecistitis, entre otras. Se ha demostrado que la presencia de dolor ocular, mialgias en los gastronemios, aumento en la creatininfosfoquinasa (CPK) y el valor elevado (cinco veces) de enzimas hepáticas, son factores importantes a tener en cuenta a la hora del diagnóstico (86-87).

Por otro lado se debe hacer una correcta anamnesis del paciente, correlacionándolo con la ubicación geográfica y la epidemiología garantizando así un diagnóstico acertado.

CONCLUSIONES

La anterior revisión, permite concluir que la leptospirosis es una enfermedad zoonótica que se encuentra distribuida a nivel mundial, causando grandes problemas tanto sanitarios como económicos. Debido a su forma de transmisión, y a los reservorios animales como las ratas, se asocia fuertemente a las condiciones sanitarias de la población, siendo una patología que afecta principalmente a países en desarrollo, además, gracias a sus signos, síntomas clínicos inespecíficos y su amplia variedad de serovares, resulta difícil hacer una adecuada anamnesis del paciente que pueda guiar a un diagnóstico

acertado, sumando a esto, los cambios climáticos y las prácticas humanas inadecuadas, resultan en una falla en el control, seguimiento y prevención de esta patología.

Otro de los problemas a tratar en esta enfermedad es la falta de un diagnóstico oportuno y la confusión con otras patologías como malaria, tuberculosis, virus, etc., lo cual no permite brindar al paciente un tratamiento apropiado. Es importante tener en cuenta que al ser una patología asociada con las condiciones socioeconómicas, se debe procurar ofrecer a la comunidad tratamientos asequibles para garantizar la contención de la leptospirosis y trabajar en políticas de salud pública, programas y estrategias que apunten a su prevención.

Actualmente, en Colombia es una enfermedad de reporte obligatorio y las estadísticas son publicadas en el boletín epidemiológico semanal, pero como se mencionó anteriormente, la falta de un diagnóstico apropiado, genera un alto porcentaje de casos no reportados, lo que sugiere que existe una incidencia aún mayor en el país.

En la última década se han llevado a cabo investigaciones a nivel molecular, con el fin de ampliar el conocimiento sobre la leptospirosis. Esto ha permitido mejorar la caracterización de la patología, las técnicas de diagnóstico y la creación de vacunas eficaces, pero aun así, se hace necesario trabajar en la creación de políticas públicas que permitan generar un control real de la Leptospira.

FINANCIAMIENTO

Este artículo surge a raíz del proyecto que estamos desarrollando con Leptospira, dentro del Semillero de investigación ECZA, financiado por la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Céspedes M. Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Reemergente. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2005; 22(4):290-307.
2. Moreno N, Agudelo P. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y múltiple para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2010; 27(4):548-56.
3. Alonso C, García F, Ortega L. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim*. 2001; 16(2):205-25.
4. Rosario L, Arencibia D, Batista N, Jiron W, Valdés B, Suárez Y, et al. Leptospirosis, una Revisión Actualizada. *Rev. Vet. Arg*. 2012; 29(291):1-20.
5. Sánchez E. Detección de *Leptospira* patógena en orina de pacientes crónicos y perros mediante PCR en el Valle del Cauca. Trabajo de grado. Santiago de Cali: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas; 2011.
6. Laguna V. Leptospirosis. Módulo Técnico. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2000.
7. Zunino E, Pizarro R. Leptospirosis. Puesta al día. *Rev Chil Infect*. 2007; 24(3):220-6.
8. Vargas M, Delgado J. Evaluación serológica de la inmunización de una bacteria comercial contra *Leptospira* spp, mediante la técnica de microaglutinación-lisis en los hatos de la sabana de Bogotá. Trabajo de grado. Bogotá D.C.: Universidad de la Salle, Facultad de Medicina Veterinaria; 2006.
9. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Leptospirosis. In.; 2004.
10. Baquero M, Gómez A, Hernández P. Aspectos moleculares relevantes de las proteínas de patogenicidad de *Leptospira* sp. *Revista de Medicina Veterinaria*. 2010; (19):101-11.
11. Martínez P, Ortega D, Salinas K. Evolución de la leptospirosis según el Sistema de Vigilancia Epidemiológica Nacional, Chile 2003-2009. *Rev Chilena Infectol*. 2012; 29(6):648-54.
12. Jiménez L. Revisión actualizada sobre métodos de identificación y diagnósticos de leptospirosis en bovinos. Tesis. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Programa de Microbiología Agrícola y Veterinaria; 2006.
13. Zapata S. Caracterización de lipopolisacárido en una cepa mutante de *Leptospira interrogans* Serovar Lai. Tesis. Quito: Universidad San Francisco de Quito; 2005.
14. Prêtre G. Proteínas recombinantes útiles para el diagnóstico, prevención y estudios patogénicos de la leptospirosis. Estudio de mecanismos patogénicos involucrados. Tesis doctoral. Argentina: Universidad Nacional de la Plata, Instituto de Biotecnología y Biología Molecular; 2011.
15. Grupo Técnico Interinstitucional del Comité Nacional para la vigilancia epidemiológica. Manual de Procedimientos Estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la leptospirosis. México; 2012.
16. Gamarra R. Leptospirosis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria; 2009.
17. Evangelista K, Coburn J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol*. 2010; 5(9):1413-25.

18. Ko A, Goarant C, Picardeau M. Leptospira: The Dawn of the Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7(10):736-47.
19. Roca B. Leptospirosis. *Rev Med Univ Navarra.* 2006; 50(2):3-6.
20. Sánchez A. Estandarización e implementación de una técnica de qPCR para la detección de *Leptospira* spp. patógenas en muestras de orina de caninos domésticos. Trabajo de grado. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria; 2014.
21. Cedola M. Estudio de mecanismos de la inmunidad innata en la patogénesis de la leptospirosis. Tesis doctoral. Argentina: Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Ciencias Biológicas; 2014.
22. Oliveira R, Domingos R, Siqueira G, Fernandes L, Souza N, Vieira M, et al. Adhesins of *Leptospira interrogans* Mediate the Interaction to Fibrinogen and Inhibit Fibrin Clot Formation In Vitro. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2013; 7(8):1-14.
23. Portela R. III Congreso Estudiantil Virtual de Ciencias Médicas. [Online]; 2002 [cited 2015 agosto 26. Available from: http://fcmfajardo.sld.cu/cev2002/conferencias/medicina_interna_portela.htm
24. OMS. Leptospirosis humana: Guía para el diagnóstico, vigilancia y control; 2008.
25. Elizalde A, Guajardo G, Catrejon O. Identificación de leptospira en la patogénesis de la uveítis crónica en la ciudad de México. *Rev Mex Oftalmol.* 2004; 78(4):165-70.
26. Kelesidis T. The cross-talk between spirochetal lipoproteins and immunity. *Frontiers in Immunology.* 2014; 5(310):1-12.
27. Aroca G, Accini J, Pérez R, Rodelo E, Dau H. Leptospirosis ictérica: Síndrome de Weil's. presentación de caso. *Salud Uninorte. Barranquilla.* 2004; 19:31-40.
28. Gonçalves-de-Albuquerque C, Burth P, Silva A, Younes-Ibrahim M, Castro-Faria-Neto H, Castro-Faria M. *Leptospira* and Inflammation. Hindawi Publishing Corporation. 2012; 2012:1-11.
29. Monahan A, Callanan J, Nally J. Host-Pathogen Interactions in the Kidney during Chronic Leptospirosis. *Vet Pathol.* 2009; 46(5):792-9.
30. Cerqueira T, Athanazio D, Spichler A, Seguro A. Renal Involvement in Leptospirosis – New Insights into Pathophysiology and Treatment. *BJID.* 2008; 12:248-52.
31. Rojas G, Kong J, Donoso A, Prado P. Una causa infrecuente de falla renal aguda e ictericia. Leptospirosis: caso clínico y revisión de la literatura. *Rev. Chil. Pediatr.* 2001; 72(3): 230-4.
32. Céspedes M, Tapia R, Balda L, Gonzales D, Peralta C, Condori P. Estandarización y validación de una prueba de PCR para el diagnóstico precoz de la leptospirosis humana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2007; 24(1): 20-6.
33. Zoonosis Ed. Protocolo de vigilancia en salud pública. Leptospirosis; 2011.
34. Vanasco N, Schmeling M, Chiani Y, Lotterberger J, Tarabla H. Diagnóstico de leptospirosis humana: evaluación de la aglutinación macroscópica en diferentes etapas de la enfermedad. *Salud Públ. Méx.* 2012; 54(5): 530-6.
35. Céspedes M, Mendoza G. Leptospirosis, a propósito de un caso. *Rev Soc Bol Ped.* 2011; 50(2):75-8.

36. Echeverri L, Atehortúa S, Ospina S. Leptospirosis con inmunoglobulina M positiva en pacientes hospitalizados en una institución de tercer nivel de Medellín, Colombia, en 2009. *infectio*. 2011; 15(2):118-23.
37. Laplume H, Sardi F, Samartino L, Vanasco B, San Juan J, Farace M, et al. Enfermedades infecciosas. Leptospirosis, Guía para el equipo de salud. Argentina: Ministerio de Salud, Dirección de Epidemiología; 2014.
38. Caíno H, Scaglia J, Curcio F, Siquiroff G. Leptospirosis. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. 2006; 1(3):30-6.
39. Saad C, Morón L, Parra E, Higuera L, Pacheco A. Leptospirosis humana: hallazgos clínicos e histopatológicos en un caso y revisión de la literatura. *Rev Col Enf*. 2006; 1(1):51-63.
40. Rodríguez B, Gómez H, Pérez B, Cruz R. Diagnóstico y tratamiento de leptospirosis humana. *Rev Cubana Med Gen Integr*. 2001; 17(1):68-73.
41. OPS. Guía de control y manejo de la leptospirosis. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Ministerio de Salud Pública.
42. OMS. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Geneva: The Organization; 2003.
43. National Center for Infectious Diseases. Infectious disease information: emerging infectious diseases.
44. Medhani B, Mahesha A, Kolitha W, Elisabeth B, Suneth A. Globalization of leptospirosis through travel and migration. *Globalization and Health*. 2014; 10(1):61.
45. Abela RB, Bertherat E, Durski K. Global burden of human Leptospirosis and cross-sectoral interventions for its prevention and control. In Prince Mahidol Award Conference, Bangkok, Thailand; 2013.
46. Pappas G, Papadimitriou P, Siozopoulou V, Christou L, Akritidis N. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis*. 2008; 12(4):351-7.
47. Ivanova S, Herbreteau V, Blasdel K, Chaval Y, Buchy P, Guillard B, et al. Leptospira and rodents in Cambodia: environmental determinants of infectio. *Am J Trop Med Hyg*. 2012; 86(6):1032-38.
48. Alan R, Arlene E, Kalani H, Sarah Y, Paul V. Leptospirosis in Hawaii, USA, 1999-2008. Hawaii State Department of Health, Honolulu. 2011; 17(2):221-6.
49. Castillo J, Rodriguez O, Silveira E, Casanova R, Gonzales Y. Leptospirosis prevalence in draught horses in Santa Clara. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. 2007; 8(7):1-4.
50. Ministerio de Salud. Manual de normas y procedimientos de vigilancia y control de enfermedades de notificación obligatoria. Argentina; 2007.
51. Sistema de Vigilancia en Salud Pública. Notificación obligatoria. Colombia Instituto Nacional de Salud; 2007.
52. Martínez P, Ortega D, K S. Evolución de leptospirosis según Sistema de Vigilancia Epidemiológica Nacional. *Revista Chilena de Infectología*. 2003-2009; 29(6):648-54.
53. Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud de Costa Rica; 2003.
54. Ministerio de Salud El Salvador. Lineamientos Técnicos para la atención y control de leptospirosis; 2011.
55. Secretaría de Salud de Honduras. Leptospirosis; 2013.
56. Ministerio de Salud Pública. Enfermedades de notificación obligatoria. República Dominicana; 2012.

57. Adesiyun A, SB, Suepaul S, Dookeran S, Stewart-Johnson A. Human leptospirosis in the Caribbean, 1997-2005: characteristics and serotyping of clinical samples from 14 countries. *Revista Panamericana*. 2011; 29(5).
58. Berdasquera D, Rodríguez I, Obregón A, Fernández C, Segura R. Brote de leptospirosis humana en la provincia de Guantánamo. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2007; 59(1).
59. Vanasco N, Schmelinga M, Lotterberger J, Costa F, Ko A, Tarabla H. Clinical characteristics and risk factors of human leptospirosis in Argentina. *Acta Tropica*. 1999-2005; 107: 255-8.
60. Licoff N, Koval A, López S, Margueritte J, Mejía M. Brote de leptospirosis en Feed Lot: descripción del caso, confirmación diagnóstica y medidas de control implementadas. *Veterinaria Argentina*. 2008; 25(250):749-55.
61. Dechener A. A retrospective analysis of the leptospirosis research in Colombia. *J Infect Dev Ctries*. 2014 agosto; 8(3):258-64.
62. Pulido A, Carreño G, Mercado M. Situación epidemiológica de la leptospirosis en Centroamérica, Suramérica y el Caribe. *Journal of the Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana*. 2014; 19(3): 247-64.
63. Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal (Semana 21). Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública; 2015 (24 mayo al 30 mayo).
64. Agudelo A, Restrepo M. Frecuencia de anticuerpos para 14 serovariedades de *Leptospira* spp detectados por la prueba de microaglutinación en una serie de casos humanos de Antioquia, Colombia 2007 julio-diciembre; 21(2): 7-13.
65. Hernandez M, Gonzalez A, Batista N, Mirabal M, Menendez J. Seroepidemiological situation of human leptospirosis in Valle del Cauca, Colombia. 2009; 61(2).
66. Romero M, Sánchez J, Hayek L. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en población urbana humana y canina del departamento del Tolima. *Salud Pública*. 2010 marzo; 12(2):268-75.
67. Bolívar S, Lagares A, Varela L, Vergara C. Prevalencia de *Leptospira interrogans* por PCR, en la población porcina del municipio de Baranoa-Atlántico (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias de la Salud*. 2012; 1(1).
68. Quitian H, Parra J, Góngora A, Arango J, Gallejo J, Aponte L. Seroprevalencia de infección por *Leptospira* spp. en auxiliares y veterinarios de consultorios de pequeños animales de Villavicencio (Colombia). *Salud Uninorte. Barranquilla*. 2009 marzo; 25(1).
69. Álvarez L, Calderón A, Rodríguez V, Arrieta G. Seroprevalencia de leptospirosis canina en una comunidad rural del municipio de Ciéna-ga de Oro, Córdoba (Colombia). *Rev. U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 2011; 14(2):75-81.
70. Segura E, Ganoza C, Campos K, Ricaldi J, Torres S, Silva H. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity with quantification of leptospiral burden. 2005; 40(3):343-51.
71. Bello S, Rodríguez F. Manual de *Leptospira* spp. Instituto Nacional de Salud; 2010.
72. Carreño L. Prevalencia de leptospirosis en Colombia; revisión sistemática de literatura. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina. Departamento de Salud Pública; 2014.
73. Karande S, Gandhi D, Kulkarni M, Bharadwaj R, Pol S, Thakare J. Concurrent outbreak of leptospirosis and dengue in Mumbai, India, 2002. 2005; 51(3):174-81.

74. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. Leptospira and leptospirosis. 1999; 51(3):174-81.
75. Dammert N. Leptospiriosis: una revisión bibliográfica. Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
76. González A, Borrero R, Ruiz J, Batista N, Fernández Y, Valdés Y, et al. Medio EMJH modificado para el cultivo de Leptospira serogrupo Ballum. Revista Argentina de Microbiología. 2006 abril; 38(2).
77. Acosta H, Moreno C, Viáfara D. Leptospiriosis: Revisión del tema. Colombia Médica. 1994; 25(1).
78. Turner L. Leptospiriosis 3. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1970; 64(4):623-46.
79. Palmer M, Hookey J. The chemiluminescent detection of leptospiral antigen. Zentralbl Bacteriol. 1992; 277(3):300-8.
80. Winslow W, Merry D, Pirc M, Devine P. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. J Clin Microbiol. 1997; 35(8):1938-42.
81. Céspedes M, Glenny M, Felices V, Balda L, Suárez V. Prueba de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico de leptospirosis humana. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2002; 19(1):24-7.
82. Agudelo P, Quiroz A, Angel V, Moreno N, Loaiza E, Muñoz L, et al. Prevalence of Leptospira spp, in Urban Rodents from a Groceries Trade Center of Medellín, Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2009 november; 81(5):906-10.
83. Smits H, Hartskeerl R, WJ T. International multi-centre evaluation of a dipstick assay for human leptospirosis. Trop Med Int Health. 2000; 5(2):124-8.
84. World Health Organization. Case definitions. Leptospiriosis. Epidemiol Bull. 2000; 21(2): 15-16.
85. Castrejon O, Sanchez B, Hernández J, Hernández E. Diagnóstico de leptospirosis crónica, comparación entre aglutinación microscópica y 3 técnicas diagnósticas confirmatorias. Rev Cubana Med Trop. 2007; 59(1):8-13.
86. Laguna V. Leptospiriosis. Módulos Técnicos. Oficina General de Epidemiología/Instituto Nacional de Salud. 2000.
87. Bal A. Unusual clinical manifestations of leptospirosis. Department of Medical Microbiology, Aberdeen Royal Infirmary, United Kingdom Symposium. 2005; 51(3):179-83.